

点についてすでに多くの事実が集積されつつあるが、これらの現象の役割が、遺伝学的な検討と相まつて解明されるのはなお今後の問題であろう。耐性菌(ことに *Mycobacterium*) の形態学的な研究は現状ではさらに不徹底の感が深い。本報においては結核菌の SM, I NH に対する耐性菌および耐性化について検討した。

まずこれらの耐性菌の発育様式、形態についてであるが、主としてその発育初期集落について感性の原菌株のそれと比較した場合、SM 耐性のスゲマ菌および H₃₇Rv 株において染色性に少しく差異を認めただけは SM, I NH いずれの耐性菌においても特記すべきほどの大差は認められなかつた。このような所見は発育したそのままの初期集落を観察することによつて、各発育段階の菌体を全体として観察し比較して得たものである。従来多くの報告におけるごとく、発育段階の異なる菌体が雑然と混在する菌液についての観察、またことに電子顕微鏡的な研究においては限られた少数の菌体について耐性菌と感性菌との比較がなされているが、これらの方法によつても大略の傾向はうかがいうるであろうが、異なる発育段階の菌体を相互に比較対照し考察する危険もありうる。上記著者の用いたごとき方法によればそのような不利を回避できる。

感性菌が発育を阻止されかつ変化を起す濃度においても耐性菌はなんら影響されないことはまず当然なことといえる。しかしながら耐性度以上の濃度の薬剤が作用したときには、やはり感性菌とならば変らない形態変化を示しかつ発育が阻止された。またこのように変化を受ける場合は、感性菌の場合と同様に集落中配列の基部には変化を受けない一部少数の菌体が存在すること、また休止あるいは死滅状態の菌体では変化が起らないこと、さらに上記のごとく変化した集落から薬剤を除いて検討した生残菌およびそれからの再発育の模様等、いずれも感性菌の場合と変つた点は認められなかつた。またある薬剤に対する耐性菌の他薬剤に対する態度は感性菌のその薬剤に対する態度と変らなかつた。上述のごとく一部の菌株では SM 耐性と染色性の変化(顆粒状化)がともなつて現われたけれども、このような耐性菌においてもその耐性度以上の SM によつて起した変化は感性菌におけるほぼ同様な特徴を示した。すなわちこれらの所見を大約すれば、耐性菌とは発育阻止、形態変化を起すに要する薬剤濃度が上昇した菌にすぎないのであつて、1, 2 の例外を除いて耐性菌に特有な形態および形態変化等というべきものは認められない。

次に耐性化の様相について考察したい。SM と I NH では少しく異なつた点はあるが、一般的に低濃度に対する耐性化と高濃度に対する耐性化とはその様相が著しく異なるごとくであつた。今日細菌の変異に関しては大別して Mutation 説と Adaptation 説の2つの考え

方があるとはいえ、Mutation 説がより支配的である。この Mutation によつて耐性菌が出現する場合、おおよそ SM においては 10⁹に、I NH においては 10⁶に 1% の割合で起るといわれている¹²⁾。高濃度においては、著者の用いた方法ではこのような菌の出現が観察されにくいことは、観察菌数が多い場合それほどには達しがたいであろうことからして一応は説明できるであろう。しかし低濃度、ことに限界濃度における耐性化による再発育の場合、ここでは定量的な検討はなされていないが、その再発育する菌体の数がきわめて多く、上記のごとき Mutation rate といわれるごときものによつては到底説明しがたい所見である。このような低濃度に耐性化したものの多くが、より高濃度に対しては耐性となりにくいという所見もまたその耐性化の機作が高濃度に対する場合のそれと異なる点があるのではないかを考えしめる。耐性化の基となる菌体が前報⁴⁾に述べた生残菌と配列のほぼ同じ部位の菌体である点、およびあらかじめ膨大した形態を形成してのち耐性化し再発育するという所見もまた同様な見地から興味深い。すなわち薬剤の作用に抵抗しまず生残した菌体が膨大した形態を形成しつつ耐性を獲得するのであらうと考えられる。耐性化の過程におけるこのような形態変化と類似の所見は低濃度 Penicillin 作用下の大腸菌においてもまたすでに観察されている¹³⁾。植田¹⁴⁾が不適当な環境において結核菌が形成する形態として指摘した膨大形もまた同様の意味をもつ菌体ではないかと考えられる。

さらに限界濃度における耐性化の速さが I NH の場合は SM の場合に比して明らかに速いことや、ことに I NH 高濃度耐性株が非常に生じにくい点等からみて異なる薬剤間すなわち SM と I NH との間でも、耐性獲得の様相に差異がある。

これら耐性化の所見は複雑な因子が重なりあつて現われた結果であることを示しており、今後さらに検討が必要であらう。

結 論

結核菌およびその他の *Mycobacterium* の SM および I NH 耐性菌の各薬剤に対する態度ならびに感性菌の低濃度薬剤作用下における耐性化の様相を観察し、以下のごとき結果をえた。

1. 耐性菌は多くの場合その発育様式、形態ともに感性菌と大差のない様相を示した。ただ SM 耐性のスゲマ菌および H₃₇Rv 株においては、その染色性に原菌株と少しく相違を認めた。
2. 耐性菌がその耐性度以上の薬剤濃度の作用を受けると感性菌と同様な形態変化、発育阻止が起り、作用条件を変化せしめた場合の所見および生残しうる菌体の所見等もまた感性菌ととくに差異を認めなかつた。

すなわち耐性菌とは形態学的には一般にその発育阻止、形態変化を起すに要する薬剤濃度が高くなつたものにすぎず、耐性菌に特有な形態とかあるいは形態変化を云々することは当を得たこととはいひがたい。

3. 感性菌が低濃度の薬剤作用下において耐性化による再発育を示したが、この場合再発育に先行して菌体の一部膨大した形態が形成され、これが耐性化による再発育の基となる形態と考えられた。またこの耐性化による再発育が SM では1週以上経過後に起るのに対してINH では比較的早期に1~3日で起り、明らかにその速さに差異を認めた。また低濃度における耐性化の菌数がきわめて多く、いわゆる Mutation の考え方のみでは説明しがたい感が深かつた。

全5篇の総括的考察

植田¹⁵⁾はさきに結核菌(ミコバクテリウム)の形態発育様式に関して独自の見解を発表した。すなわちとくにその発育初期集落の観察から、この種の菌は一般細菌と著しく趣を異にした発育様式を示すこと、発育段階によつて形態、染色性を著しく異にした菌体が順序よく配列していること等を明らかにし、配列先端部の菌体こそ発育に直接関与する形態であり、配列の基部に位置する抗酸性の菌体中にはすでに生活力を失つた変性菌体が多いことを考察した。このような考え方を斟酌すれば、このような発育様式をとる菌に抗結核剤を作用せしめて、発育の段階を異にするそれぞれの菌体がいかに変化を受けるか、常に規則正しい配列中の菌体について追究することは合理的でもあり、また興味深いものがある。

従来多くの研究者が用いた結核菌菌液に薬剤を作用せしめて観察する方法では雑然と混在する各菌体が薬剤によつて起したある変化を観察しえたとしても、それは個々の菌体に限る所見にすぎないものであつて、当該結核菌(ミコバクテリウム)全体について云々するに十分なよりどころとは成りがたい。このような見地から著者は植田が用いた方法にならつて、まず発育初期集落を形成せしめ、これに薬剤を作用せしめ、しかもその配列を乱さないようにして観察する方法を用いた。このようにすることによつて集落中配列の位置から各発育段階の菌体がそれぞれどのように薬剤作用によつて変化するかを追跡することが可能となつた。

このような観察の結果、まず注目されたことは、SM または INH を(あるいは両剤を同時に)作用せしめた場合、集落中配列の先端部の菌体は変化を起すが、配列の基部(集落の中心部)にはほとんど毎常なんら変化を受けない一定数の抗酸性の菌体が存在することであつた。さらに氷室中で薬剤を作用せしめたり、加熱処置後薬剤を作用せしめる等菌を休止あるいは死滅状態にして薬剤を作用せしめた場合には、当然変化を起すことが期

待せられる位置の菌体においても変化が起らないことが明らかとなつた。いずれにしても SM, INH のごとき薬剤が影響し形態的变化を起さしめるのは、その配列中の位置からみても生活状態にある菌体のみであることがほぼ明らかとなり、配列の基部の変化を起さない菌体はこれらの点からしても生活状態にない菌体であることがわかつた。このような変化を起さない菌体がただ単に休止状態にあるのみであるか否かを検討するために薬剤を除去して再度培養を続けた。その結果は生残し再発育する菌体は配列先端部の変化を受けた菌体中の一部少数の菌体であることが明らかにされたが、変化を起さなかつた配列基部の菌体からは再発育を認めることは困難であつた。すなわちこれらの所見は植田の発育様式に関する考え方を強く支持することくであつた。もちろんここに示された成績のみによつて、このような抗酸性の菌体の全部が生活力ないし発育力を全く失つてると断定しようとするものではないが、結核菌菌体のそれぞれがその発育段階につれて薬剤に対する態度が異なる点から、大きく2つに区別せられること、また発育初期集落中においてさえすでに薬剤に作用されない菌体、すなわち生活状態にないあるいは変性した菌体が配列の基部(集落の中心部)に存在することは注目に値する所見であつた。

またこのような観察の結果は、薬剤の作用に比較的良好抵抗を示し、生残しうる発育段階の菌体の存在をもほぼ明らかにすることができた。すなわち薬剤の影響に堪えて生残しうる菌体は元の集落中配列のほぼ一定部位ごとく先端でも基部でもなく、その中間の部位の菌体であり、再発育が起る場合にはこのような部位の菌体から2つの相接した発芽が生じた。すなわち一定の発育段階の菌体が生残し、再発育したことは明らかである。

また耐性化する菌体もこのような発育段階の菌体とほぼ一致することが認められた。すなわち低濃度薬剤作用下において、菌体の一部分が膨大し、おそらくは多核であるらしい形態が、多くの場合集落中配列の一定部位に形成せられ、さらにこのような形態の一部のものから耐性化による再発育がみられた。すなわちこの膨大した形態は薬剤の微弱な作用に対抗しようとする形態変化と考えられ興味ある所見であつた。

次にここで用いた SM および INH はそれぞれその作用機作を異にすることが形態学的変化からも判断せられた。すなわち SM がより直接的に菌を変性せしめるごとくであるに対して、INH を作用せしめた場合は一たん菌体構造の顕著な変化およびとくに印象的な抗酸性の消失を起してのち、変性過程に移ることが注目せられた。また SM, INH を同時に作用せしめた場合 SM による変化が優先して現われたことから、SM がより直接的に作用することは明らかである。しかしながら INH も高濃度では直接的に影響して変性せしめ

ることくであつて、その作用の様相が変り、SM作用の場合と類似した所見を示すこともまた注目せられた。

いま一つ、耐性菌についてはSM耐性菌株中の一部には感性原菌株と染色性を少しく異にしたものがあつたが、一般的にいつてその発育様式、形態ともに原菌株と大差なく、耐性菌とはこのような見方からだけすれば、いわば発育阻止および形態変化を起すために高濃度の薬剤を要するよつた菌株であるというにすぎない。その耐性度以上の濃度の薬剤に対しては本来感性菌が示すと同様な態度を示した。また低濃度薬剤含有環境中で菌が耐性化する場合、その菌数がきわめて多く、いわゆるMutationの考え方のみでは到底説明しがたいのではないかと考えられた。

以上5回にわたる報告において抗結核剤SM, INHによる結核菌(ミコバクテリウム)の形態、発育様式の変化について検討したが、その結果は結核菌の発育様式に関する知見をさらに深めると同時にSM, INHのこの種の菌に対する作用機作の差異その他の点を形態学的に明らかにすることができた。

御指導御校閲を賜つた植田三郎教授に満腔の謝意を表するとともに御援助を賜つた国立宇多野療養所日下

部周利所長に深甚なる謝意を表する。

文 献

- 1) 伊藤：結核, 33(5):353, 昭33.
- 2) 伊藤：結核, 33(6):408, 昭33.
- 3) 伊藤：結核, 33(7):467, 昭33.
- 4) 伊藤：結核, 33(8):533, 昭33.
- 5) 馬場：医療, 7:15, 昭28.
- 6) 篠原：抗研誌, 10:141, 昭30.
- 7) 篠野：結核, 31(12):723, 昭31.
- 8) 中村他：日本臨牀結核, 16(6):406, 昭32.
- 9) Smith, P. H., et al.: J. Bact., 58:761, 1941.
- 10) Youmans, A.S., & Youmans, G.P.: Am. Rev. Tuberc., 72(2):196, 1955.
- 11) Barclay, W.R., et al.: Am. Rev. Tuberc., 67:490, 1953.
- 12) Braun, W.: Bacterial Genetics, p. 62, W.B. Saunders, 1953.
- 13) Shanahan, A.J., et al.: J. Bact., 55(4):537, 1948.
- 14) 植田：病巢内の結核菌, 医学書院, 昭32.
- 15) 植田：結核菌の研究I, 南江堂, 昭28.